

Rec'd PCT/PTO 27 DEC 2004



REC'D 29 JUL 2003

WIPO PCT

MAGYAR KÖZTÁRSASÁG

ELSŐBBSÉGI TANÚSÍTVÁNY

Ügyszám: U0200185

A Magyar Szabadalmi Hivatal tanúsítja, hogy

Halas Zsuzsanna, Pécs 25 %,
 dr. Szekeres György, Pécs 50 %,
 Zorn Lászlóné, Pécs 25 %,

2002. 06. 25. napján 26247/02 iktatószám alatt,

Szöveti mikrosorozat építő kéziműszer-készlet

című használati mintaoltalmi bejelentést tett Magyarországon.

Az idefűzött másolat a bejelentéssel egyidejűleg benyújtott leírással, igénypontokkal és rajzokkal mindenben megegyezik.

Budapest, 2003. év 07. hó 04. napján

hoho "Guine"

A kiadmány hiteléül: Szabó Emilné osztályvezető-helyettes

The Hungarian Patent Office hereby certifies in this priority certificate that the said applicant has filed the said utility model application under the specified date, application number and filing number. The true copy of the application and the official filing receipt are attached herewith.

PRIORITY DOCUMENT
 SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
 COMPLIANCE WITH
 RULE 17.1(a) OR (b)

BEST AVAILABLE COPY

Használati minta címe:

Szöveti mikrosorozat építő kéziműszer készlet**ELSŐBBSÉGI PÉLDÁNY**

Használati mintánk tárgya szöveti mikrosorozat építő kéziműszer készlet, amely szövethenger kiszűrőt és alsó- és felsörészből álló TMA blokk kiöntöt foglal magában.

A szöveti mikrosorozat építő kéziműszer készlet TMA sorozatok készítésére alkalmas, mely a hagyományos, rutin szövettani laboratóriumi körülményekhez jól illeszkedve lehetővé teszi TMA sorozatok gyors, megbízható "házigazdag" elkészítését.

A TMA (TMA, tissue microarrays) technológia diagnosztikus markerek, rosszindulatú daganatok agresszivitásával kapcsolatos paramétereknek és tumorsejtek egyéb biológiai jellemzőinek meghatározására alkalmazható.

A TMA nagyon hasznos retrospektív tanulmányok kivitelezésére a kórszövettani laboratóriumokban tárolt sokezernyi szövettani minta sokezernyi molekuláris biológiai marker irányába történő vizsgálatára.

A DNS-chiphez hasonlóan, mely a genomot vizsgálja eltérések, abnormális gén-expresszió kimutatására, a szöveti microsorozatok (TMA, tissue microarrayas) megengedi a biológiai minták párhuzamos feldolgozását. A TMA módszer lehetővé teszi a kutatók számára különböző molekuláris paraméterek (DNS, RNS molekuláris biológiai eljárásokkal és antigének immunhisztokémiajá/immuncitokémiajá) egyidejű összehasonlító vizsgálatát számos rosszindulatú daganatos szövetből vett szövettani mintákban egyetlen TMA alkalmazásával.

Nagy számú, az ép és kóros (elsősorban a daganatos) sejtek genomját és fenotípusát meghatározó, új antigén-determinánsokra fajlagos monoklonális ellenanyag fejlesztése van folyamatban és kerül bevezetésre diagnosztikus és terápiás alkalmazásra (immunmorphológia). Folyamatos a genetikai módszereken alapuló vizsgáló eljárások elterjedése, melyek alapja a sejtekben a DNS és/vagy mRNS egyes szakaszainak azonosítása (molekuláris biológia). Szöveti reaktivitásuk és potenciális alkalmazhatóságuk megítélése a leggyakoribb daganat típusokban számos laboratórium feladata.

Ebből következően megállapíthatjuk, hogy a vizsgálati eljárás elterjedt, rendkívül széles körben alkalmazott.

A vizsgálati eljárás során több különböző tumorszövetből vett szövettani minta kerül rendezett sorozatokban paraffinba beágyazásra a TMA kialakítása céljából. A TMA blokk kerül metszésre, melynek eredményeként a különböző tumorszövetek pontszerű képletekként jelennek meg a szövettani fénymikroszkópos metszetekben. Mivel valamennyi TMA blokkból több száz, párhuzamos, egyenként 3-4 µm vastagságú sorozatmetszet készíthető, több száz molekuláris paraméter vizsgálható ugyanazon mintasorozaton. Számos tumormarker elemzése pár hét alatt kivitelezhető, míg ugyanez a hagyományos módszerrel, szövetmintánként több hónapot igényelne.

Jelen ismereteink szerint a hagyományos, teljes méretű szövettani metszeteken (fagyaszott és/vagy fixált-beágyazott szövetekből) és citológiai mintákon (kenetek, ülepítmények, lenyomatok, citocentrifugátumok, stb.) végzett reakciók hasznosak a daganatok molekuláris markereinek kimutatására, a körlefolyás előrejelzésére. Ugyanakkor technikai és anyagi okokból csak korlátozott számú minta vizsgálható, az értékelés időigényes, laboratóriumok közötti összehasonlító, reprodukálható vizsgálatok nehezen kivitelezhetők. Elsősorban a reprodukálhatóság hiánya a hátránya az u.n. „multi-tissue block” módszernek, mely egy szövettani blokkban számos különböző szövetből/blokkból származó részletet tartalmaz, emellett gyakorta a daganatszöveteken belül az egyes molekuláris markerek eloszlása meglehetősen heterogén, egyetlen kis méretű szövetrészlet nem reprezentálja megfelelően az egész tumorsejt populatio biológiai jellemzőit.

A „chip” technológiára nagy mértékben emlékeztető, mondhatni, azon alapuló eljárás, a szöveti mikrosorozatok („tissue microarrays”, TMA) alkalmazása lehetővé teszi százas/ezres nagyságrendben a szövetminták vizsgálatait.

Egyre nagyobb számban jelennek meg az orvosi biotechnológiai alapkutatásban azon ismeretek, melyek alkalmazása minden a diagnosztikumok, minden a kezelési eljárások, terápiás készítmények alapjait alkotják. Ugyanakkor az ezekkel kapcsolatos alkalmazott kutatás és kutatás-fejlesztés (K&F), valamint a klinikai kipróbálás folyamatai hosszadalmas, több éves, gyakran évtizedes idő és ezzel párhuzamos anyagi ráfordítást igényelnek. Használati mintánk szerinti szöveti mikrosorozat építő kéziműszer készlet megbízhatóan és költségkímélő módon rövidíti a szükséges vizsgálati időt.

A 4 820 504 szabadalmi lajstromszámú US szabadalomban foglaltak ismert és világszerte elterjedt eljárást ismertetnek, mely több szövetmintát magába foglaló vizsgálati minta kialakítására szolgál. Előnye az egyszerű, gyakorlaitlag valamennyi rutin- és kutatólaboratóriumi háttérben való kivitelezhetőség, alacsony költségigény, új műszer beszerzését nem igényli. Az eljárás hátránya, hogy az újonnan, egymás mellé beágyazott szövetminták véletlenszerűen helyezkednek el, nem rendezett sorokba-oszlopokba rendezetten, ami az értékelést nagy mértékben nehezíti, az automatikus (képelemző) feldolgozás gyakorlatilag lehetetlen, vagy csak igen bonyolult, lassú és nehézkes formában kivitelezhető, az egyes szövetminták mérete is csak közelítőleg hasonló. Az eljárás leírásához új eszköz nem tartozik.

A mi eljárásunk és a használati mintánk tárgyat képező eszköz éppen ezen hátrányok kivédését célozza.

A 5 002 377 szabadalmi lajstromszámú US szabadalom egy eszközt ír le, mely szabályos sorokba-oszlopokba rendezi a szövetmintákat és így nyer multiplex szövetblokkot. Előzővel azonos bejegyzője igen ismert a szakterületen, ennek ellenére az eljárás nem terjedt el széles körben. Kétségtelen előnye az eszköz alkalmazásával szabályos, közel azonos méretű szövetminták előállítása és beágyazása valósul meg. Hátránya viszont, hogy a blokk kialakítása során az egyes szövet-hasábok -bár csak minimális mértékben- eltolódhatnak. Az eszköz legnagyobb hátránya még, hogy egyrészt nem biztosítja a legelterjedtebb és legismertebb laboratóriumi használati eszközökkel (műszerek és fogyóeszközök) való kompatibilitást, másrészt három igen eltérő eszközt igényel, ennek ellenére a manuális tevékenység igen jelentős szerepet játszik ezek használatában. Az egyik eszköz egy több párhuzamosan elrendezett vágolapból áll, melyek a szövetmintákból szövethasábokat vágnak ki, mely kizárolag nagyobb méretű mintákon alkalmazható. A másik két komponens a kivágott szövethasábok egyetlen paraffin blokkba történő beágyazását teszik lehetővé.

A 6 103 518 szabadalmi lajstromszámú US szabadalom által ismertetett készülék végeredményét tekintve jól használható szöveti mikrosorozatok előállítását eredményező asztali műszer. Az eljárás a befogadó paraffinos blokk (recipiens) befogadó-helyeinek és a donor blokk kiválasztott helyeiről történő minták (szövethengerek) vételének a jól orientált módszerén alapul. Ezen előnyök mellett magas árfekvése, bonyolult mechanikai megoldásai és a recipiens blokk befogadó helyeinek egyenként történő elkészítése jelent hátrányt a minden napjai gyakorlatban.

Használati mintánk elé kitűzött cél a fenti megoldások hátrányainak kiküszöbölése, olyan szöveti mikrosorozat építő kéziműszer készlet kidolgozása, amely egyszerű, olcsó, kompatibilis valamennyi, általánosan elterjedt szövettani laboratóriumi álló és fogyóeszközzel. A kéziműszer alkalmazásának lényege, hogy a recipiens blokk készítése elkülönül a mintavételtől, így az előbbiek előzetesen is elkészíthetők és külön tárolhatók, a minták utólag is behelyezhetők a recipiens blokkba, kis helyigényű, könnyen tisztítható, karbantartást gyakorlatilag nem igényel, valamennyi alkatrésze külső fizikai és kémiai behatásnak ellenálló és a recipiens blokk egy lépésben kialakítható.

Használati mintánk azon a felismerésen alapul, hogy a megoldásunk szerinti szöveti mikrosorozat építő kéziműszer készletet méreteiben egymáshoz illeszkedő olyan elemekből kell kilalakítani, amelyek illeszkednek a hagyományos rutin szövettani laboratóriumi körülmények között használt eszközökhöz, a szöveti mikrosorozat építő kéziműszer készletet tehát úgy alakítottuk ki, hogy az szövethenger-kiszúró és alsó- és felsőrészből álló TMA blokk kiöntő foglal magában és ezen utóbbihoz a hagyományos, legelterjedtebben használatos paraffin blokk kiemelő (blokk-tartó, blokkoló) jól illeszkedik. A szövethenger kiszúró ismert műszaki megoldás, a kiszúrás elvén működő készülék. A szúróvég kiszúró csöként van kialakítva, amelynek belső átmérője egy vagy kettő mm. Ez a kiszúrócső fogadja be a minta (donor blokk) meghatározott helyéről vett szövethengert, amit a készülék belsejében rugóval visszatolt dugattyúként működő tűszonda segítségével manuálisan lehet kitolni a szúróvégből. A tűszonda külső átmérője megközelíti a szúróvég belső átmérőjét, és úgy van méretezve, hogy azon belül szabadon csússzon.

TMA blokk kiöntő két fő elemből készül, u.n. alsórészből és felsőrészből. Az alsórészt sorokba és oszlopokba rendezett, egy vagy kettő mm, a kiszúrócsővel megegyező átmérőjű középen elrendezett tüskékkel láttuk el. Miután a paraffin blokk kiöntésekor az alsó és felsőrész összeszerelt állapotban van és a paraffint a felsőrész által képződő üregbe öntjük, abban egy olyan peremet kellett kialakítani, amely méreteiben és alakjában megegyezik a laboratóriumokban általánosan használt u.n. paraffinblokk kiemelő alakjával és méreteivel. Az alsórészen legalább kettő db, az alaplapba építve legalább kettő függőleges megvezető csapot kell építeni, amely biztosítja, hogy a kiöntő kéziműszer szétszerelésével a paraffinblokkot párhuzamosan, sérülésemmentesen lehessen kiemelni. A TMA blokk kiöntő alsó- és felsőrészének szétnyitásakor a két elem egymástól való egyenletes eltávolodását legalább kettő egymással átlóban elrendezett menetes szárakkal biztosítottuk.

Az ismertetett hátrányok körzöbölését olyan szöveti mikrosorozat építő kéziműszer készlet biztosítja, amely szöveti mikrosorozat építő kéziműszerkészlet, amely önmagában ismert megoldású szövethenger kiszúróból és TMA blokk kiöntőből áll ahol a TMA blokk kiöntő alsó és felsőrészből áll, az alsórész középen sorokba és oszlopokba elrendezett, az alaplapra merőlegesen álló tüskékkel van ellátva, a felsőrész a TMA blokk kiöntő összeszerelt állapotában a tüskéket magába foglaló peremes kivágással van kialakítva, amely kivágás pereme és mérete illeszkedik a paraffinblokk kiemelő alakjához és méreteihez, valamint az alsó- és felsőrész megvezető csapokkal és menetes szárakkal kapcsolódik egymáshoz vízszintes irányban rögzítve, a TMA blokk kiöntő alsórésze legalább két függőleges megvezetőcsappal van ellátva amely megvezetőcsapok a felsőrészen kialakított furatokba függőleges irányban elmozdithatóan csatlakoznak, a TMA blokk kiöntő felsőrészében legalább kettő átlósan elhelyezett átmenő furat van, amelyekbe a menetes szárak illeszkednek és a menetes szárak vége a TMA blokk kiöntő összeszerelt állapotában az alsórészen támaszkodik.

A használati mintánk szerinti szöveti mikrosorozat építő kéziműszer készletet rajzok segítségével ismertetjük részletesen.

1. ábra a TMA blokk kiöntőt axonometrikusan ábrázolja
2. ábra a szöveti mikrosorozat építő kéziműszer készletből TMA blokk kiöntő és a paraffin blokk kiemelőt axonometrikusan mutatja be.
3. ábra a kész paraffin blokkot ábrázolja a szövethenger kiszúróval.

Az 1. ábrán bemutatott 1 TMA blokk kiöntő két fő elemből készül, u.n. 2 alsórészből és 3 felsőrészből. Az 2 alsórésznek sorokba és oszlopokba elrendezett, egy vagy kettő mm átmérőjű 4 tüskéi vannak. A 4 tüskék átmérője azonos a SZK szövethenger kiszúró 8 kiszúrócsövének átmérőjével. Az 2 alsórészen legalább kettő az 2 alsórészre merőleges 5 vezető csapok vannak, amelyek biztosítják, hogy a kiöntő kéziműszer szétszerelésével a PB paraffin blokk párhuzamosan legyen kiemelve és ne sérüljön. A 3 felsőrész külső mérete megegyezik az 2 alsórész méretével és középen a 4 tüskéket befoglaló méretű 7 peremesen kiképzett 6 kivágása van. A 6 kivágáson kiképzett 7 perem úgy van kialakítva, hogy abba illeszthető legyen a 2. ábrán látható, kereskedelmi forgalomban kapható PBK paraffin blokk kiemelő. Az 2 alsórészen 5 vezetőcsapok vannak, amelyek a 3 felsőrészen kialakított 10 átmenő furatokba csatlakoznak, valamint a 3 felsőrészen lévő további 11 átmenő furatokba az

összeszerelt és a paraffin blokkal kiöntött szerszám egyenletes, a két rész párhuzamos szétnyitását segítő 9 menetes szárák illeszkednek.

A 1 TMA -blokk kiöntő 2 alsó- és 3 felsőrészének szétnyitásakor a két elem egymástól való eltávolodását legalább kettő, egymással átlóban elrendezett 9 menetes szárakkal biztosítjuk. A SZK szövethenger kiszúró egy vagy kettő mm belső átmérőjű 8 kiszúrócsőben végződik.

Az önmagában ismert műszaki megoldású SZK szövethenger kiszúró fogadja be a minta (donor blokk) meghatározott helyéről vett szövethengert, amit a készülék belsejében rugóval visszatolt dugattyúként működő tűszonda segítségével manuálisan lehet kitolni a 8 kiszúrócsöből.

A tűszonda külső átmérője megközelíti a 8 kiszúrócső belső átmérőjét, és úgy van méretezve, hogy azon belül csússzon.

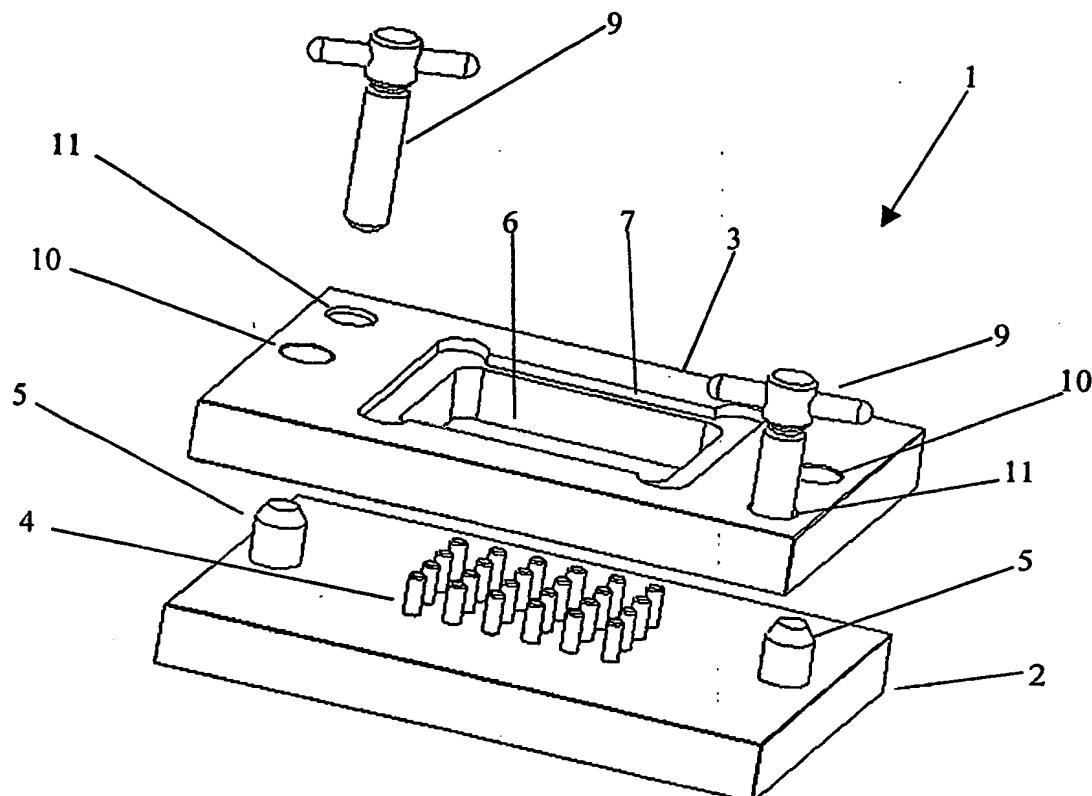
A paraffin blokk készítésekor az összeszerelt 1 TMA blokk kiöntőt a 6 kivágáson feltöltjük paraffinnal. A paraffin lehűlését követő megdermedése és a szerkezetből történő kiemelése után egy vagy kettő mm átmérőjű szabályos sorokba, oszlopokba rendezett, párhuzamos hossztengelyű hengeres lyukakat tartalmazó PB paraffinblokk (recipiens/befogadó blokk) jön létre. Ezen lyukakba lehet az azonos keresztmetszet-átmérőjű, a donor blokkokból a SZK szövethenger kiszúróval kiemelt szövethengereket (punch) betolni, amely folyamat végén létrejön a TMA blokk.

Mint leírásunkból látható a használati mintánk kifejlesztésével megvalósult a kitűzött cél. A TMA sorozatok készítésére alkalmas kéziműszer olyan egyszerű, olcsó, könnyen kezelhető és tisztán tartható, környezetét nem károsító kéziműszer, mely a hagyományos, rutin szövettani, laboratóriumi körülményekhez jól illeszkedve lehetővé teszi TMA sorozatok gyors, megbizható elkészítését.

Használati minta igénypontok

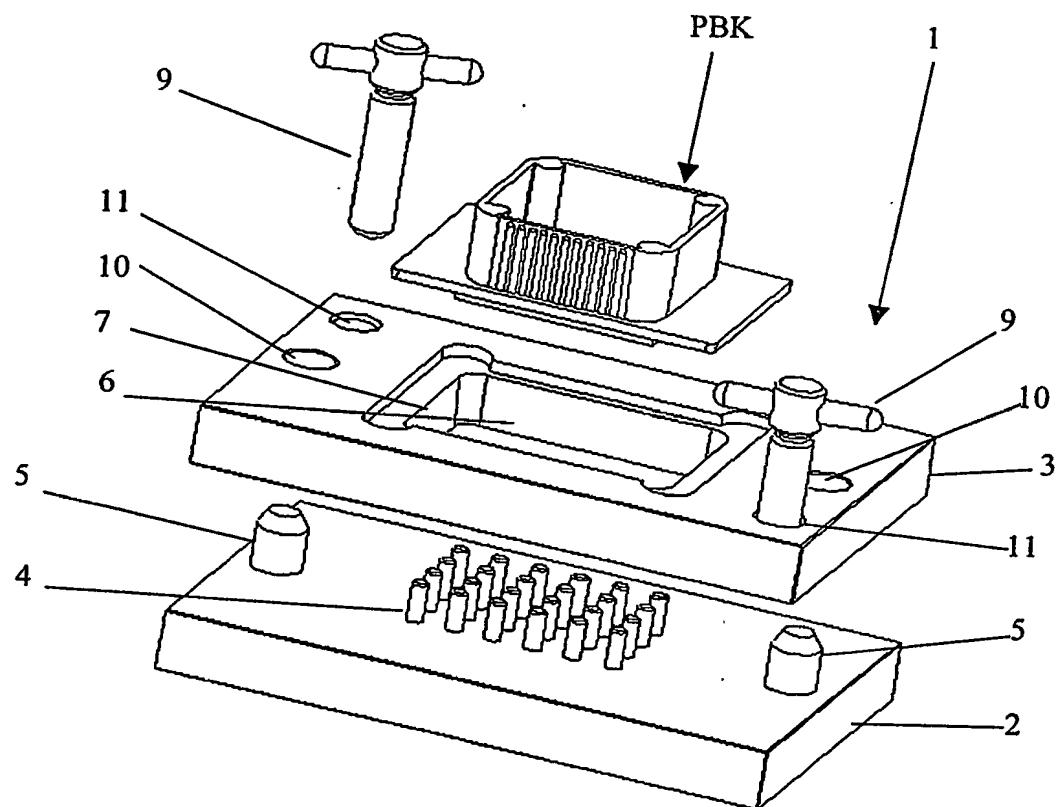
1. Szöveti mikrosorozat építő kéziműszerkészlet, amely önmagában ismert megoldású szövethenger kiszúróból és TMA blokk kiöntőből áll azzal jellemezve, hogy a TMA blokk kiöntő alsó- (2) és felsőrészből (3) áll, az alsórész (2) középen sorokba és oszlopokba elrendezett, az alaplapra merőlegesen álló tüskékkel (4) van ellátva, a felsőrész (3) a TMA blokk kiöntő (1) összeszerelt állapotában a tüskéket (4) magába foglaló peremes (7) kivágással (6) van kialakítva, amely kivágás (6) pereme (7) és mérete illeszkedik a paraffin blokk kiemelő (PBK) alakjához és méreteihez, valamint az alsó- (2) és felsőrész (3) megvezető csapokkal (5) és menetes szárakkal (9) kapcsolódik egymáshoz vízszintes irányban rögzítve.
2. Az 1. Igénypont szerinti kéziműszerkészlet azzal jellemezve, hogy a TMA blokk kiöntő (1) alsórésze (2) legalább két függőleges megvezetőcsappal (5) van ellátva, amely megvezetőcsapok (5) a felsőrészen (3) kialakított furatokba (10) függőleges irányban elmozdithatóan csatlakoznak.
3. Az 1. Igénypont szerinti kéziműszerkészlet azzal jellemezve, hogy a TMA blokk kiöntő (1) felsőrészében (3) legalább kettő átlósan elhelyezett, átmenő furat (11) van, amelyekbe a menetes szárok (9) illeszkednek és a menetes szárok (9) vége a TMA blokk kiöntő (1) összeszerelt állapotában az alsórészen (2) támaszkodik.

dr. Balogh M.



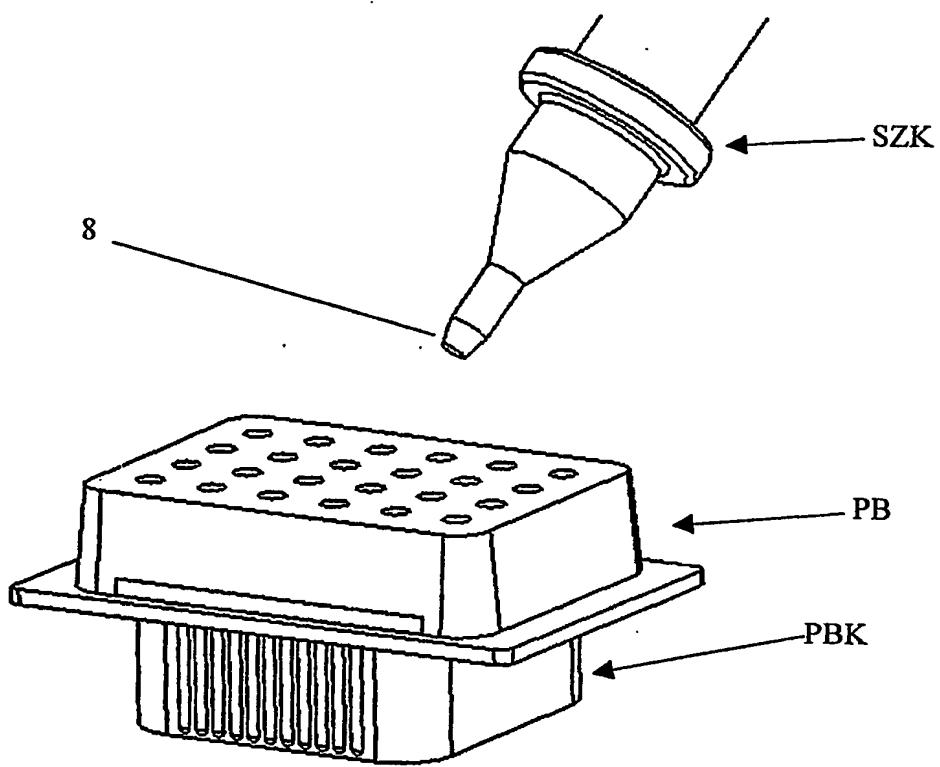
1 ábra

dr. Kellerm



2. ábra

dr. Fischer



3. ábra

h. helm

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.